

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Psiquiatria e Psicologia Médica

Será a Disbiose Intestinal um fator de risco para o desenvolvimento de Esquizofrenia?

Joana Brígida Conceição Capela



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Psiquiatria e Psicologia Médica

Será a Disbiose Intestinal um fator de risco para o desenvolvimento de Esquizofrenia?

Joana Brígida Conceição Capela

Orientado por:

Dra. Filipa Andreia Lemos Novais Oliveira Cruz

Dezembro de 2018

Resumo

Existe cada vez mais evidência sobre a influência da microbiota intestinal nos processos de doença dos vários órgãos e sistemas. Na área da Psiquiatria, nomeadamente na Esquizofrenia, há cada vez maior evidência de que a disbiose, ou seja, a alteração da composição e função da microbiota, possa constituir um fator de risco importante para o seu desenvolvimento. A flora intestinal comensal desempenha um importante papel no neurodesenvolvimento, concretamente na maturação de estruturas como a amígdala, o córtex pré-frontal e hipocampo, além de influenciar a maturação do sistema imunitário, incluindo a microglia. Na presença de disbiose essa maturação encontra-se perturbada, traduzindo-se na modificação das estruturas cerebrais e das respostas inflamatórias a nível intestinal, sistémico e posteriormente do SNC, podendo estar associadas ao desenvolvimento de sintomas da doença. A microbiota exerce a sua influência sobre o SNC por várias vias, sendo as hipóteses, atualmente, mais aceites as Hipóteses associadas aos Neurotransmissores, a Hipótese da Membrana e a Hipótese Inflamatória. Apesar dos estudos não serem concordantes sobre que alterações microbianas poderão constituir fator de risco para Esquizofrenia, é consensual que algumas das espécies aparecem mais frequentemente alteradas e que efetivamente existe uma desregulação na homeostasia da relação com o hospedeiro. Sendo esta uma área de interesse futuro, começam a ser dados os primeiros passos na abordagem terapêutica à microbiota, com alguma evidência positiva sobre o uso de probióticos e a possibilidade de incluir prebióticos, transplantes fecais e outras opções no tratamento destes doentes.

Palavras-chave: microbiota, Esquizofrenia, microglia, inflamação

Abstract

There is increasing evidence of the influence of the intestinal microbiota on the disease processes of various organs and systems. In the area of Psychiatry, namely in Schizophrenia, there is an increasing evidence that dysbiosis, that is, alteration of the composition and function of the microbiota, may constitute an important risk factor for its development. The commensal intestinal flora plays an important role in neurodevelopment, specifically in the maturation of structures such as the amygdala, prefrontal cortex and hippocampus, and influence the maturation of the immune system, including microglia. In the presence of dysbiosis, this maturation is disturbed, resulting in the modification of brain structures and inflammatory responses at the intestinal, systemic and later CNS levels, and may be associated with the development of symptoms of the disease. The microbiota exerts its influence on the CNS through several pathways, and hypotheses that are now more accepted include Neurotransmitters Hypotheses, Membrane Hypothesis and Inflammatory Hypothesis. Although the studies do not agree on which microbial alterations could be a risk factor for Schizophrenia, it is agreed that some of the species appear more frequently altered and that there is a deregulation in the homeostasis of the relation with the host. As this is an area of future interest, the first steps in the therapeutic approach to the microbiota, with some positive evidence on the use of probiotics and the possibility of including prebiotics, fecal transplants and other options in the treatment of these patients are beginning to be taken.

Abreviaturas

5-HTP – 5-hidroxitriptofano

AAAD – *aromatic L-amino acid decarboxylase*

AMPA – *α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor*

ATP – *Adenosine triphosphate*

BHE – Barreira hemato-encefálica

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

GM-CSF – *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*

IDO – *indoleamine 2,3-dioxygenase*

IMC – Índice de Massa Corporal

NAD – *Nicotinamide adenine dinucleotide*

NMDA – *N-methyl-D-aspartate*

PCR – Proteína C reativa

PANSS – *Positive and negative symptoms scale*

SANS – *Scale for the Assessment of Negative Symptoms*

TDO – *tryptophan 2,3-dyoxigenase*

Th – *T helper cells*

TNF – *Tumor necrosis factor*

TPH – *tryptophan hydroxylase*

Treg – Células T reguladoras

Índice

Introdução	1
Material e métodos	2
1. A Esquizofrenia	2
2. A Microbiota Intestinal.....	3
3. Influência da Microbiota no Neurodesenvolvimento	4
4. Fatores que induzem Disbiose na relação Microbiota-Hospedeiro	7
4.1. Impacto da toma de Antibióticos na Microbiota.....	8
5. Microbiota “normal” <i>versus</i> Microbiota patológica.....	10
6. A relação do “microbiota-gut-brain-axis” com as Hipóteses da Esquizofrenia	12
6.1. Hipóteses associadas aos Neurotransmissores.....	12
6.1.1. Hipótese do Glutamato.....	13
6.1.2. Hipótese da Dopamina	14
6.1.3. Hipótese da Serotonina	15
6.2. Hipótese de Membrana	16
6.3. Hipótese Inflamatória	19
6.3.1. A via das células Th17	20
7. Terapêutica proposta para a Esquizofrenia com ação na microbiota	23
7.1. Probióticos	23
7.2. Prebióticos	26
7.3. Transplante fecal de microbiota.....	27
7.4. Outros potenciais alvos terapêuticos.....	27
8. Discussão e Conclusão	28
Agradecimentos	31
Bibliografia	33

Introdução

Apesar dos avanços na Medicina e da melhor compreensão da fisiopatologia das doenças mentais, persistem lacunas no conhecimento. Um dos problemas atuais prende-se com a eficácia no tratamento dessas doenças. Na Esquizofrenia, cada vez mais se impõe a necessidade de mecanismos explicativos objetivos, que permitam desenvolver novos alvos terapêuticos e melhorar o controlo da doença.

A microbiota do trato gastrointestinal, isto é, os microrganismos que colonizam o trato gastrointestinal (1), tem influência numa grande variedade de doenças crónicas, em diferentes órgãos e sistemas, como são exemplo: Diabetes *Mellitus* tipo II, Síndrome Metabólico, Doença Inflamatória Intestinal, Cancro e Alzheimer, pelo que nos últimos anos tem-se assistido a uma crescente investigação nessa área (1–3). Assim, têm surgido estudos referentes ao papel da microbiota no desenvolvimento de doenças psiquiátricas como Doenças do Espectro do Autismo, Ansiedade, Depressão, Dependência de álcool, Doença Bipolar e Esquizofrenia, com resultados promissores e novas pistas para a compreensão dessas doenças (2).

A inflamação gastrointestinal poderá desempenhar um importante papel nas doenças mentais (4). De facto, as doenças inflamatórias intestinais, de que são exemplo, a Doença Celíaca, Doença de Crohn e Colite Ulcerosa, , associam-se a aumento do risco de Esquizofrenia (4). Quando essa inflamação, que começa por ser local, alcança o SNC, inicia-se um estado de neuroinflamação crónica, com implicações no comportamento do hospedeiro (2). Qualquer anomalia no processo de colonização intestinal poderá desencadear respostas imunológicas alteradas, uma vez que esta é crítica para o desenvolvimento do sistema imunitário (3). Assim, uma microbiota alterada poderá constituir o ponto de partida para um estado de inflamação global do organismo.

De acordo com o incremento da investigação sobre a microbiota intestinal e o seu papel nas doenças psiquiátricas, os objetivos desta revisão são: compreender a influência da microbiota intestinal no neurodesenvolvimento e função do SNC, identificar os fatores que alteram a microbiota intestinal, explorar a composição da microbiota intestinal na Esquizofrenia, determinar a relação da microbiota intestinal com as principais teorias explicativas da Esquizofrenia, e finalmente, apresentar terapêuticas para Esquizofrenia que tenham como alvo a microbiota intestinal.

Material e métodos

A revisão narrativa da literatura, que se segue, foi elaborada após colheita de artigos científicos da fonte de pesquisa PubMed, entre as datas de setembro de 2017 e dezembro de 2018. Foram utilizadas as seguintes palavras-chave de pesquisa: "psychiatric and microbiome", "psychosis and microbiome", "microbiota and neurodevelopmental disorders", "microbiota and vagus nerve", "tryptophan and microbiota", "tryptophan and brain-gut-microbiome-axis", "microbiome and schizophrenia", "microbiome and inflammation and schizophrenia", "Th17 cells and schizophrenia", "microbiota and interleukin-17", "IL-17 and schizophrenia", "schizophrenia treatment and inflammation", "schizophrenia treatment and microbiome", "impact of microbiota in colonizing gut", "probiotics and schizophrenia". Foi também utilizado o livro "Manual de Psiquiatria Clínica" para complementar a informação acerca das Hipóteses associadas aos Neurotransmissores e Hipótese Inflamatória.

1. A Esquizofrenia

A Esquizofrenia é uma doença do neurodesenvolvimento, com uma prevalência de 0,87% e incidência anual de 0,20/1000/ano, com maior prevalência no sexo masculino (5). Caracteriza-se por sintomas psicóticos que surgem, frequentemente, na adolescência ou início da idade adulta, podendo existir alterações cognitivas e sociais desde a infância (5,6). Manifesta-se por sintomas positivos (alucinações, delírios), negativos (embotamento afetivo, alogia, avolição) e cognitivos, com impacto no funcionamento do indivíduo (3,5). Associa-se, ainda, a uma redução da esperança média de vida e uma taxa de suicídio de 5%, sendo uma causa relevante de mortalidade em idades jovens (3,5).

Esta doença psiquiátrica associa-se a perda progressiva de massa cerebral, caracterizada por diminuição da espessura cortical e do volume de substância branca e cinzenta, sendo a redução do volume do hipocampo um marcador fisiopatológico da doença, com efeitos particularmente pronunciados em estadios precoces (7,8). Os mecanismos que conduzem a estas alterações não são conhecidos, mas possivelmente o stress oxidativo, a neuroinflamação e a excitotoxicidade glutaminérgica constituem os principais fatores (7).

A causa da Esquizofrenia permanece desconhecida, mas será provavelmente fruto da interação dinâmica e bidirecional entre fatores genéticos e ambientais, sendo os últimos particularmente importantes no período pré e pós-natal, pela grande

vulnerabilidade cerebral associada (5,6,9). Recentemente, a microbiota intestinal tem sido apontada como um dos mais importantes fatores ambientais envolvidos nos mecanismos fisiopatológicos da doença (6).

2. A Microbiota Intestinal

À totalidade de microrganismos presentes num habitat designa-se “microbiota”, e o conjunto de genomas da microbiota denomina-se “microbioma” (2,3,10). O trato gastrointestinal humano alberga uma enorme quantidade e diversidade de microrganismos comensais, na ordem dos 100 triliões, entre eles bactérias, *archaea*, vírus, leveduras, fungos, protozoários, eucariotas unicelulares e parasitas, os quais integram a microbiota intestinal, que em conjunto com os microrganismos da pele e trato respiratório, formam a microbiota de cada indivíduo (1,3,11). As bactérias estão presentes em maior número, sendo os filo mais comuns no intestino dos adultos: *Firmicutes* (38,8%), *Bacteroidetes* (27,8%), *Actinobacteria* (8,2%), *Proteobacteria* (2,1%), *Verrucomicrobia* e *Fusobacteria*, num total de mais de 1000 espécies e entre 2-20 milhões de genes (1,3,10,11). Estes microrganismos são fundamentais para a saúde e manutenção da homeostasia, pela simbiose estabelecida com o hospedeiro, influenciando o desenvolvimento de múltiplos órgãos e sistemas (1). O microbioma, tal como o genoma humano, está sujeito a influência ambiental ao longo do tempo, sofrendo alterações por ação da dieta, fármacos, suplementação com pré e probióticos, estilo de vida ou área geográfica (3,6).

O que define uma microbiota saudável é a sua estabilidade e diversidade (1). De notar que apenas 1/3 das espécies são semelhantes entre diferentes indivíduos (1), pelo que uma grande multiplicidade de microrganismos pode integrar esta definição. De facto, a composição taxonómica ideal da microbiota continua por definir, se é que efetivamente existe (12). Contudo, apesar da grande variabilidade inter-individual, a comunidade microbiana individual é relativamente estável (13).

Pensou-se, durante muito tempo, que os recém-nascidos nasciam estéreis e que a colonização inicial do trato gastrointestinal ocorria durante o parto, pelo contacto com a microbiota vaginal e fecal da mãe (11,13). Estudos mais recentes, provaram que a colonização começa ainda no útero, já que foram detetadas bactérias no cordão umbilical, placenta, líquido amniótico e mecónio (14). A colonização intestinal, no início de vida, é crucial para o desenvolvimento e funcionamento do sistema imunitário, de tal forma que

alterações do processo modificarão respostas metabólicas e imunitárias no intestino do hospedeiro, com ocorrência de inflamação crônica e stress oxidativo (3,15,16).

A microbiota sofre variações com o ciclo de vida do hospedeiro, essencialmente durante o período de colonização intestinal e a infância, pelo que sob certas circunstâncias pode estabelecer-se uma relação de disbiose (1,15). Falamos de disbiose quando surge um estado em que a composição e função microbianas alteram do seu normal papel benéfico para um papel deletério, com consequências para a saúde do hospedeiro (16).

3. Influência da Microbiota no Neurodesenvolvimento

O desenvolvimento do SNC ocorre numa constante interação com a microbiota (5). Assim, existe uma influência mútua entre os dois: a microbiota manipula o SNC por libertação de aminoácidos essenciais e participando na resposta imunitária e inflamatória; o SNC altera o habitat intestinal e consequentemente a composição microbiana, por exemplo, pela regulação da secreção de muco a esse nível (15). O conceito de *“microbiota-gut-brain-axis”* traduz essa comunicação bidirecional entre o trato gastrointestinal, nomeadamente através da microbiota, e o SNC (2).

Os circuitos neuronais, que estão na base da cognição social, emoção e comportamento, têm períodos críticos de desenvolvimento, os quais são particularmente sensíveis a fatores ambientais (5). Assim, os fatores que atuam durante esses períodos poderão conduzir ao anormal desenvolvimento neuronal, podendo contribuir para o desenvolvimento de doenças psiquiátricas (5). Paralelamente, também a microbiota tem os seus períodos críticos de desenvolvimento (2).

A manipulação do tempo de colonização em ratos provou que a flora comensal intestinal desempenha um importante papel durante as janelas do neurodesenvolvimento (17,18). Por exemplo, a microbiota influencia a neurogénese ao nível do hipocampo ainda em estadios precoces da vida (10). Esta estrutura, juntamente com o ventrículo lateral, têm a função de gerar novos neurónios, pelo se o processo não decorrer como esperado, esta capacidade poderá estar alterada (10). De facto, ratos adultos sem microbiota apresentam neurogénese aumentada, com aumento do volume do hipocampo e atrofia dendrítica, associados a alterações cognitivas (19).

A amígdala também sofre influência da microbiota (17). Esta é uma estrutura do SNC envolvida no processamento das emoções, que modula os comportamentos de

ansiedade e medo, processos de memória e especialmente de interação social (17,20). Stilling et al.(2018) procuraram perceber se a atividade genética na amígdala, durante a interação social, diferia entre ratos sem microbiota daqueles com microbiota normal (20). Os ratos não colonizados tinham aumento dos mecanismos de *splicing* alternativo, um processo que permite às células produzirem proteínas diferentes a partir de um mesmo gene (20). Concluíram que a ausência de microbiota durante o desenvolvimento cerebral diminui a interação social na vida adulta, por desregulação das vias de transcrição genética na amígdala (20). Após colonização dos ratos, os níveis de interação social aumentavam, sugerindo que o desenvolvimento desta habilidade depende de sinais provenientes da flora comensal intestinal (20). De notar que o aumento na atividade da amígdala constitui uma das alterações estruturais da Esquizofrenia (5).

As bactérias comensais têm capacidade para modular a expressão genética do hospedeiro (4). Por outras palavras, o microbioma influencia a epigenética, a qual diz respeito às modificações do genoma não provenientes de alterações na sequência de DNA, potencialmente herdadas e reversíveis (11). O microbioma contribui para a absorção e secreção de minerais como a iódina, zinco, selénio, cobalto e outros cofatores que participam nos processos epigenéticos (11). Outros metabolitos da microbiota intestinal, como S-adenosil-metionina, acetil-CoA, NAD e ATP são também cofatores essenciais às enzimas que regulam a metilação do DNA e modificação das histonas (11). Na última década foram detetadas centenas de alterações epigenéticas no sangue e SNC de doentes psiquiátricos, comparativamente a grupos de controlo (11). Identificaram-se alterações na metilação do DNA em genes fundamentais para o neurodesenvolvimento em córtex fetal humano, sugerindo que os mecanismos epigenéticos medeiam algumas das alterações presentes na Esquizofrenia (11).

Nos mamíferos, o córtex pré-frontal é essencial na aprendizagem emocional e nas respostas de medo e ansiedade (17). Juntamente com a amígdala, o córtex pré-frontal é responsável pela regulação emocional, facilitando também o armazenamento de memórias, comportamento flexível e atenção (17). Assim se percebe que a sua disfunção se associa a múltiplas doenças neuropsiquiátricas e do neurodesenvolvimento (17). Hoban et al. (2016) analisaram sequências de RNA no córtex pré-frontal de ratos sem microbiota, ratos sem microbiota posteriormente colonizados e grupo de controlo, por forma a determinar se existiam diferenças no transcriptoma, isto é, diferentes sequências de RNA resultantes de diferente expressão genética (17). Os resultados revelaram

diferenças na expressão genética, do córtex pré-frontal, entre os diferentes grupos estudados, com mais de 15% dos genes associados ao processo de mielinização e aumento da sua expressão em ratos não colonizados (17). Assim, provou-se que na ausência de microbiota, a bainha de mielina dos neurónios do córtex pré-frontal é mais espessa, o que poderá ter consequências ao nível do comportamento social e ansiedade, por dificuldade na neurotransmissão (17). Hoban et al. (2016) demonstraram que, se a colonização ocorrer após ultrapassada uma janela de desenvolvimento crítica, a reversão estrutural não será completa (17). Outros autores mostraram que a introdução de microbiota normal em ratos não colonizados permitia aos neurónios com alteração da mielina regressar ao estado normal (11), sendo esse resultado dependente do período em que a colonização é feita.

Irene et al. (2018) demonstraram a ocorrência de alterações estruturais da substância branca em relação com alterações da população bacteriana intestinal, em modelos animais (18). A partir de modificações na dieta de ratos, que contribuíram para alterações taxonómicas e de abundância relativa na composição da microbiota, foram determinadas as seguintes associações entre as estruturas cerebrais e a microbiota: alterações no neocórtex tinham relação com *Roseburia*, *Peptococcaceae*, *Mogibacteriaceae* e *Coprobacillus*; alterações no hipotálamo tinham relação com *Enterobacteriaceae*, *Mogibacteriaceae*, *Roseburia* e *Peptococcaceae*; alterações no córtex orbitofrontal tinham relação com *bromii* e *Odoribacter* (18). Neste estudo, as modificações estruturais do SNC não parecem resultar da ação da dieta de forma direta, mas por intermédio desta na atividade dos microrganismos (18). Por exemplo, *Roseburia* associa-se a uma dieta rica em fibras (18). Noutros estudos, dietas ricas em proteína e gordura associaram-se à presença de *Bacteroides*, enquanto os hidratos de carbono favoreceram o crescimento de *Prevotella* (16). As dietas com consumo animal aumentavam os *Bacteroides* e reduziam os níveis de *Firmicutes*, já que estes últimos necessitam de metabolizar polissacáridos com origem vegetal (16).

A microglia diz respeito às células do sistema imunitário com origem nos macrófagos que entram no SNC aquando da formação dos primeiros neurónios (21). Constitui a primeira linha de defesa contra lesões e infeções e contribui para o desenvolvimento, função e homeostasia cerebrais, sendo a sua maturação e funcionamento influenciadas pelo metabolismo da microbiota intestinal (10,21). A microglia regula a formação e transmissão sinápticas, morte e sobrevivência celulares,

assim como participa nos processos embrionários do SNC (21). Dadas as suas funções, tem sido associada ao início e progressão de doenças do neurodesenvolvimento (21). A microglia está em permanente contacto com o ambiente através de recetores e moléculas sinalizadoras, designadas de sensoma (21). Sob condições normais, a microglia está num estado de fraca ativação, num equilíbrio entre sinais inibitórios e estimuladores (8). Contudo, quando existe excesso de ativação da microglia, são produzidas grandes quantidades de citocinas pro-inflamatórias (8).

4. Fatores que induzem Disbiose na relação Microbiota-Hospedeiro

Vários são os fatores que parecem influenciar a composição e estabilidade da microbiota intestinal, entre eles: fatores genéticos, metabolismo, idade, género, estilo de vida, exercício físico, meio urbano, dieta (especialmente nos primeiros anos de vida), interações sociais, menor contacto com o ambiente, gravidez, via do parto, período de hospitalização no pós-parto, toma de antibióticos pela grávida durante o parto, antibióticos, antipsicóticos, infeções e *stress* (5,11,15,22). Alguns destes fatores serão discutidos com maior pormenor.

O *stress*, particularmente no período pré-natal e primeiros anos de vida, pode ter grande impacto na composição microbiana (2). Também o aleitamento materno altera a microbiota, já que estes indivíduos apresentam maior número de *Bifidobacteria* e menor de *Clostridium difficile* e *Escherichia coli*, contrastando com os recém-nascidos alimentados por fórmulas de leite, que apresentam maior número de *Clostridium difficile* e *Escherichia coli* e menor de *Bifidobacteria* (11,13). A introdução de fórmulas de leite nos recém-nascidos rapidamente altera a composição da microbiota intestinal, que além dos microrganismos já referidos, é ainda constituída por *Streptococcus*, *Lactococcus* e *Lactobacillus* (11). Os nutrientes e componentes bioativos do leite materno são fundamentais para estabelecer e manter a microbiota intestinal (11). Cada criança terá uma experiência microbiana única nos primeiros meses/anos de vida, sendo que o risco de psicopatologia poderá emergir de padrões de colonização anormais (13).

Para determinar se a disbiose intestinal materna em ratos, induzida pela dieta, poderia afetar a função neuro-comportamental na descendência, Annadora et al. (2017) transplantaram microbiota intestinal associada a dieta rica em gordura ou dieta baixa em gordura para ratos fêmea (23). Os resultados mostraram menor vocalização nos ratos descendentes de mães que receberam microbiota proveniente de dieta com elevado teor

de gordura (23). Os descendentes macho, nas mesmas condições, revelaram ainda alterações na exploração ambiental, função cognitiva (nomeadamente na aprendizagem) e comportamentos estereotipados (23). Os resultados divergiam em termos da diversidade taxonómica da microbiota dos dois grupos em estudo (23). O declínio da performance comportamental nos descendentes macho parecia relacionada com a diminuição de membros do filo *Firmicutes* (*Clostridium*, *Erysipelotrichaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* e *Enterococcus*), sugerindo que a disbiose materna afeta o comportamento da descendência, com preferência pelo género (23). Assim, os ratos machos são mais vulneráveis às influências ambientais *in utero* que as fêmeas (23). Outros estudos mostraram que grávidas com dieta rica em gordura durante a gestação e período de aleitamento tinham filhos com disbiose, a qual se mantinha mesmo depois de uma dieta isocalórica (11). Outros autores demonstraram uma depleção de *Bacteroides* no mecónio de crianças em condições semelhantes (11).

A dieta está entre os fatores que mais afetam o perfil microbiano (11). A microbiota do adulto exibe plasticidade e é fortemente influenciada por fatores nutricionais, com risco de rápida alteração na sua composição, uma vez alterados os padrões da dieta (13). O consumo de alimentos ricos em gordura reduz a plasticidade sináptica, enquanto dietas pouco calóricas associam-se a melhoria cognitiva em ratos adultos, nomeadamente nos processos de memória e aprendizagem (18).

A disbiose promove um aumento da síntese de compostos deletérios (amónia, fenóis, indóis, aminas e sulfureto) e redução de antioxidantes (16). Os metabolitos produzidos pelas bactérias comensais podem afetar a expressão cerebral de proteínas importantes na cognição, afetando o comportamento do hospedeiro (15). A disfunção da microbiota afeta o SNC, por diversas vias, sendo as mais relevantes a modificação da permeabilidade intestinal, com passagem das endotoxinas para a circulação sistémica (16) e, a inflamação e perturbação da neurotransmissão, discutidas em detalhe no capítulo 6. A disbiose resulta ainda na ativação/desativação do sistema nervoso autónomo, o qual influencia, por meio do núcleo do trato solitário, a atividade da amígdala e o córtex cerebral (16).

4.1. Impacto da toma de Antibióticos na Microbiota

Os antibióticos de largo espectro afetam até 30% das bactérias comensais intestinais, causando quedas rápidas e significativas do número e diversidade taxonómica (11,14). Assim que termina o tratamento, dependendo da resiliência dos microrganismos,

a composição original pode ser restaurada (11). Nos casos de administração repetida, parece não haver recuperação do estado inicial da microbiota (11,13). Estes efeitos são mais significativos nos primeiros anos de vida, por correspondência ao período crítico de maturação do sistema imunitário (11). Segundo alguns autores, quatro semanas após cessar o tratamento com antibiótico em crianças, as perturbações na microbiota intestinal persistem (14). Apesar da maior vulnerabilidade das crianças, mesmo quando os ciclos de tratamento com antibiótico são curtos, podem surgir alterações duradouras na microbiota intestinal, em qualquer fase da vida (24).

A vancomicina e o imipenem, por exemplo, induzem redução da diversidade da microbiota em ratos, com perda essencialmente dos filo *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (24). Esta alteração parece manter-se por, pelo menos, três meses após cessar a administração dos antibióticos, sugerindo que mesmo uma breve exposição é suficiente para induzir alterações taxonómicas duradouras (24). Este efeito dos antibióticos foi igualmente observado em humanos (24). Os antibióticos de largo espectro, nomeadamente β -lactâmicos e fluoroquinolonas, também alteram a diversidade microbiana intestinal, com aumento do género *Bacteroides* e redução de *Firmicutes* (24). Os macrólidos são antibióticos com capacidade para induzir alterações duradouras na composição da flora comensal das crianças (24). Por outro lado, alguns autores concluíram que a penicilina não tem grande impacto na flora comensal, pelo que o efeito que o antibiótico exerce sobre a microbiota depende da classe a que pertence (24).

Em estudos com animais, os antibióticos interferem com a microbiota intestinal, com impacto no comportamento e cognição do hospedeiro, pelo que tem sido sugerido que estes mesmos mecanismos possam estar envolvidos no desenvolvimento de doenças mentais em humanos (24,25).

Morgane et al. (2018) concluíram que a depleção aguda de microbiota em ratos adultos, por tratamentos curtos com antibiótico, induz uma rápida e ligeira alteração no transcriptoma da microglia, diferente entre machos e fêmeas, sugerindo que a flora comensal tem um impacto a esse nível, variável dependente do sexo (21). Contudo, a maioria das alterações no transcriptoma da microglia será devida a efeitos de longo prazo sobre a microbiota (21).

Rebecca et al. (2016) colocaram a hipótese dos antibióticos administrados, nos primeiros anos de vida, terem impacto negativo no neurodesenvolvimento,

possivelmente, pela ação na flora comensal intestinal (14). Investigou-se uma possível associação entre administração de antibióticos em início de vida com cognição, comportamento e humor na infância (14). Os resultados indicaram piores *outcomes* nas crianças tratadas com antibiótico, no primeiro ano de vida, comparativamente às que não receberam tratamento com antibiótico, com piores *scores* nos testes de inteligência, pior capacidade de leitura, maior dificuldade comportamental, entre outros (14). Estes resultados apoiam a existência de janelas críticas de desenvolvimento, já que as agressões externas no primeiro ano de vida parecem ser aquelas com maior risco de induzir perturbações a longo prazo (14). Alterações nos metabolitos em circulação e na expressão de neuropeptídeos parecem ser vias através das quais a disbiose induzida pelos antibióticos atua a nível cognitivo (14).

Köhler et al. (2016) sugerem que os fármacos utilizados para o tratamento de infeções aumentam 37% o risco de Esquizofrenia, sendo esse risco superior para os antibióticos de largo espectro (25). Esse risco depende de fatores genéticos, da dose farmacológica utilizada no tratamento e do tempo decorrido desde a última prescrição de antibiótico (25). Segundo os autores, não parece existir um período de maior vulnerabilidade na infância (25). Contudo, a minociclina (uma tetraciclina) parece ser o único antibiótico com efeito terapêutico na Esquizofrenia, nomeadamente no tratamento dos sintomas negativos, provavelmente por alteração na composição da microbiota (16,26).

5. Microbiota “normal” versus Microbiota patológica

E. Schwarz et al. (2018) estudaram a composição microbiana fecal em doentes com primeiro episódio psicótico e em indivíduos saudáveis (4). Foram detetadas diferenças na composição da microbiota entre os grupos em estudo: os *Lactobacillus* foram a diferença mais significativa, correlacionando-se positivamente com a gravidade dos sintomas psicóticos e negativamente com o funcionamento global (4). Os doentes com aumento de *Lactobacillus* apresentavam ainda uma taxa de remissão inferior ao grupo de controlo (28% comparativamente a 70%) (4). Outros microrganismos diferiam nos dois grupos: *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* (*Faecalibacterium sp.* e *Ruminococcus spp.*) e *Bacteroides spp.*, aumentadas no grupo de controlo; *Bifidobacteria* e *Coriobacteriaceae* aumentadas nos doentes com primeiro episódio psicótico (4). Em relação a famílias de bactérias, *Halothiobacillaceae*, *Brucellaceae* e *Micrococcineae*

estavam aumentadas, enquanto *Veillonellaceae* estavam diminuídas no grupo de doentes (4).

Ying He et al. (2018) verificaram que existiria um aumento da ordem *Clostridiales*, *Lactobacillales* e *Bacteroidales*, do género *Lactobacillus* e *Prevotella* e da espécie *Lactobacillus ruminis*, num grupo de indivíduos com risco altamente elevado de Esquizofrenia, face aos grupo de indivíduos de risco elevado e de indivíduos saudáveis em estudo (6). Em relação ao grupo de indivíduos com risco elevado de Esquizofrenia e grupo de controlo, a microbiota sem essas alterações parecia conferir proteção contra a doença, mesmo perante predisposição genética (6). Segundo outros autores, as bactérias da ordem *Clostridiales* parecem correlacionar-se de forma negativa com a performance cognitiva (19). A evidência sugere que o isolamento social em ratos juvenis com essa modificação da microbiota, leva a disrupção da normal comunicação bidirecional neuronal, metabólica e imunológica, entre a microbiota intestinal e o SNC (19). Consequentemente, ocorre ativação da microglia e supressão sináptica no hipocampo e córtex pré-frontal (19).

Yang Shen et al. (2018) compararam a microbiota intestinal entre doentes com Esquizofrenia a fazer antipsicóticos há pelo menos seis meses e com doença estável há três meses, e indivíduos saudáveis (22). Ao nível do género, a microbiota fecal do grupo da Esquizofrenia revelou-se rica em *Prevotella*, *Succinivibrio*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Megasphaera*, *Acidaminococcus*, *Citrobacter*, *Phascolarctobacterium* e *Desulfovibrio*, enquanto o grupo de indivíduos saudáveis tinha uma flora intestinal rica em *Streptococcus*, *Coprococcus*, *Roseburia* e *Blautia* (22). Além disso, ao nível do filo, *Proteobacteria* e *Fusobacteria* eram abundantes no grupo da Esquizofrenia e *Firmicutes* eram abundantes no grupo de controlo (22). Com estes resultados, os autores sugerem a possibilidade de recorrer ao estudo dos microrganismos que compõem a microbiota como biomarcadores para distinção de doentes com Esquizofrenia de indivíduos saudáveis, nomeadamente: *Gammaproteobacteria* em termos de classe, *Enterobacteriales* em termos de ordem, *Alcaligenaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Lachnospiraceae* ao nível da família, *Acidaminococcus*, *Phascolarctobacterium*, *Blautia*, *Desulfovibrio* e *Megasphaera* ao nível do género, *plebeius* e *fragilis* ao nível da espécie (22).

Nguyen et al. (2018) avaliaram a composição da microbiota em doentes esquizofrénicos com doença crónica e indivíduos sem doença psiquiátrica, comparando os resultados (27). Os achados mais significativos mostraram que: em termos de filo,

havia uma redução na abundância relativa de *Proteobacteria* no grupo de doentes; em termos de género, *Anaerococcus* estava aumentado no grupo de doentes, enquanto *Haemophilus*, *Sutterella* e *Clostridium* estavam diminuídos nesse mesmo grupo (27). Além disso, nos esquizofrénicos, a abundância de *Ruminococcaceae* correlacionava-se com menor gravidade de sintomas negativos, enquanto *Bacteroides* se associava a sintomas depressivos mais marcados (27). Segundo os próprios autores, este estudo tem em comum com os resultados de Ying He et al. e Yang Shen et al. o facto da flora comensal intestinal diferir entre doentes com Esquizofrenia e indivíduos saudáveis, apesar dos resultados serem inconsistentes no que respeita à taxonomia das bactérias alteradas (27).

6. A relação do “microbiota-gut-brain-axis” com as Hipóteses da Esquizofrenia

A interação entre a microbiota e o SNC acontece por várias vias: através de processos metabólicos, pelo sistema imunitário, através do sistema nervoso entérico (SNE), pelo do nervo vago e por mecanismos hormonais (2,3,6,10). Contudo, não está demonstrada uma associação entre cada uma destas interações e as principais hipóteses explicativas da Esquizofrenia.

Ao longo dos anos têm surgido algumas hipóteses para explicar o desenvolvimento da Esquizofrenia, entre elas: as Hipóteses associadas aos Neurotransmissores (Hipótese do Glutamato, Hipótese da Dopamina e Hipótese da Serotonina), Hipótese Inflamatória (28) e Hipótese da Membrana (6), as quais serão abordadas de seguida.

6.1. Hipóteses associadas aos Neurotransmissores

A flora comensal intestinal é capaz de produzir neurotransmissores essenciais, tais como GABA, dopamina, serotonina, acetilcolina, epinefrina e norepinefrina (6,29). Por exemplo, *Bifidobacterium infantis* tem capacidade para elevar os níveis de triptofano e assim influenciar os níveis de serotonina (30). Também outras bactérias da flora comensal, nomeadamente *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Escherichia coli* k-12, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida* e *Enterococcus* são capazes de produzir serotonina a partir do triptofano, pelo menos *in vitro* (13). *Bacillus* sintetizam dopamina e *Lactobacillus* spp. produzem acetilcolina (30). As espécies *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* conseguem sintetizar GABA, enquanto *Escherichia*, *Bacillus* e *Saccharomyces* spp. produzem norepinefrina (30).

Estes compostos neuroativos atuam essencialmente a nível local, sobre o Sistema Nervoso Entérico (31). Contudo, podem também alcançar o SNC através da sua passagem para a corrente sanguínea (por passagem através da mucosa intestinal) e posteriormente atravessam os órgãos circunventriculares sem BHE, ou causam impacto na atividade do SNC através do nervo vago (30,31). O nervo vago tem capacidade para detetar os metabolitos da microbiota, através das suas vias aferentes, transferindo a informação até ao SNC, onde esta será integrada, surgindo consequentemente uma resposta através das vias eferentes (31). As fibras aferentes vagais estão distribuídas por todas as camadas da parede intestinal, mas não atravessam o epitélio, pelo que não estão em contacto direto com a microbiota (31). Assim, estas fibras detetam apenas sinais indiretos provenientes da microbiota, através da difusão dos compostos ou metabolitos bacterianos, ou através de sinais transmitidos por células epiteliais (31).

6.1.1. Hipótese do Glutamato

Acredita-se que a hipofunção do recetor NMDA do glutamato seja central na fisiopatologia da Esquizofrenia, uma vez que antagonistas deste recetor produzem sintomas Esquizofrenia-like, enquanto agonistas diminuem os sintomas negativos e melhoram a cognição (2,15). O ácido quinurénico, um metabolito do triptofano, é um dos antagonistas dos recetores NMDA do glutamato ao nível do SNC, pelo que a sua elevação poderá ser relevante na fisiopatologia da Esquizofrenia (32). De facto, vários autores demonstraram haver um aumento dos níveis de ácido quinurénico no córtex pré-frontal e líquido de doentes com Esquizofrenia (32).

O triptofano é um aminoácido essencial, obtido principalmente através da dieta, apesar de algumas bactérias comensais conseguirem sintetizá-lo, por ação da triptofano sintase (13). Algumas bactérias da flora comensal intestinal, nomeadamente *Bacteroides fragilis*, possuem a enzima triptofanase que lhes permite utilizar o triptofano para o seu crescimento, limitando a disponibilidade para o hospedeiro (13).

O triptofano é primeiramente convertido em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) pela enzima hidroxilase do triptofano (TPH) e posteriormente convertido em serotonina pela via aminoácido aromático descarboxilase (AAAD) (13). Apesar da conversão do triptofano em serotonina, a via mais comum do metabolismo do triptofano é a da quinurenina (13). A quinurenina é produzida a partir do triptofano por ação das enzimas hepáticas triptofano-2,3-dioxigenase (TDO) ou indolamina-2,3-dioxigenase (IDO) (13,32). A IDO é influenciada por estímulos inflamatórios, sendo o IFN- γ o seu mais

potente indutor, mas outras citocinas pro-inflamatórias induzem a atividade da enzima, pelo que se deduz que a inflamação sistémica favorece a conversão de triptofano em quinurenina (13,32). A quinurenina atravessa a BHE, participando na síntese de metabolitos neuro-ativos (13,32). É metabolizada segundo duas vias: uma em que origina ácido quinurénico – um neuroprotetor antagonista dos recetores NMDA, cainato e AMPA do glutamato – e outra que origina ácido quinolínico – um neurotóxico agonista dos recetores de NMDA do glutamato (13,32). Apesar do ácido quinurénico ser neuroprotetor, poderá também induzir neurotoxicidade quando anormalmente elevado (13). A disfunção da via da quinurenina induz stress oxidativo, que por sua vez leva a apoptose neuronal e alterações estruturais ao nível da amígdala, hipocampo e córtex pré-frontal, culminando no aparecimento de patologia psiquiátrica, nomeadamente Esquizofrenia (33). A administração de *Lactobacillus johnsonii* a ratos resulta na redução da concentração sérica de quinurenina e da atividade da IDO, *in vitro* (13). O fenómeno deve-se possivelmente à produção de peróxido de hidrogénio (H₂O₂) pela espécie, o qual influencia o metabolismo do triptofano (13).

Concluindo, o metabolismo do triptofano é influenciado por determinadas espécies bacterianas da flora comensal e os seus metabolitos atuam sobre os recetores do glutamato, pelo que um desequilíbrio nas vias da quinurenina poderá conduzir a alterações neurológicas, que poderão estar associadas à Esquizofrenia. Além disso, é necessário um normal desenvolvimento da microbiota para uma expressão adequada dos recetores NMDA, pelo que a disbiose pode contribuir para a disfunção desses recetores (2). De facto, ratos sem microbiota apresentam uma diminuição da expressão dos recetores de NMDA ao nível do córtex cerebral e hipocampo (15).

6.1.2. Hipótese da Dopamina

Segundo esta hipótese, na Esquizofrenia existe uma hiperatividade da transmissão de dopamina a nível cerebral (28). Mais concretamente, ocorre um excesso de função dopaminérgica a nível subcortical e um défice de função a nível cortical, resultando os sintomas positivos da hiperestimulação de recetores D₂ e os sintomas negativos e défices cognitivos de hipoestimulação de recetores D₁ (28). De facto, existe melhoria sintomática com o bloqueio dos recetores da dopamina, e instalação de sintomas semelhantes aos da doença com o uso de substâncias que alterem as concentrações do neurotransmissor na fenda sináptica (28).

Está provado que a microbiota intestinal é capaz de produzir dopamina, já que ratos sem microbiota apresentam níveis mais baixos desse e outros neurotransmissores (24). Por exemplo, as bactérias produtoras de ácido láctico são um exemplo dessa capacidade (24). Apesar da dopamina produzida a nível intestinal não atravessar a BHE (24), é possível que alcance o SNC pelas vias referidas no início do capítulo. De facto, estas bactérias parecem de alguma forma modular a neurotransmissão central, uma vez que ratos sem microbiota apresentam níveis de metabolitos das catecolaminas cerebrais inferiores, em comparação com ratos colonizados (24). Este resultado sugere a ocorrência de um elevado nível de dopamina cerebral em ratos não colonizados (24). A colonização destes animais aumenta a degradação da dopamina no córtex pré-frontal e hipocampo, sustentando a hipótese de que a microbiota poderá regular a neurotransmissão cerebral (24), apesar desses mecanismos não serem conhecidos.

6.1.3. Hipótese da Serotonina

A serotonina constitui um neurotransmissor envolvido na regulação do comportamento, apetite, emoção, função motora, cognição e sistema autonómico (11,13,29). Mais de 90% é produzida no intestino, mais concretamente nas células enterocromafins, onde a microbiota promove a sua síntese e regulação, a partir do triptofano (6,11,13). Apesar desta serotonina não atravessar BHE, tem sido sugerido que ela afete a atividade do nervo vago, manipulando indiretamente a função cerebral (11).

Substâncias agonistas que atuam nos recetores da serotonina 5HT_{2A/2C} induzem sintomas semelhantes aos da Esquizofrenia (28). O bloqueio destes recetores, por outro lado, melhora a sintomatologia negativa (28). A administração de *Bifidobacterium infantis* a ratos reduz os níveis de metabolitos da serotonina no córtex pré-frontal, mas aumenta as concentrações plasmáticas de triptofano e ácido quinurénico (13). Deste modo, a sua presença na microbiota poderá ter efeitos negativos, pelo aumento do ácido quinurénico, antagonista dos recetores NMDA. A administração de *Lactobacillus helveticus* parece reduzir os níveis de serotonina no SNC, por ação nos metabolitos da via da quinurenina, com melhoria dos processos cognitivos (13), pelo que a sua presença poderá ser protetora em relação ao desenvolvimento de Esquizofrenia ou melhorar a evolução da doença. Existe uma diminuição da expressão de recetores 5HT_{2A} no córtex pré-frontal de doentes com Esquizofrenia, que provavelmente surge com o decurso da doença (28).

6.2. Hipótese de Membrana

A Hipótese de Membrana defende que a Esquizofrenia resulta da disfunção das membranas celulares (6). Defende ainda que a doença é parte de um processo fisiopatológico sistémico de disfunção membranar, em vez de um doença cerebral independente, o que vai de encontro ao conceito de *microbiota-gut-brain-axis* (6).

Por ativação da microglia inicia-se um processo de disfunção membranar com alteração da integridade de membranas, que vai induzir apoptose celular, contribuir para a disrupção da BHE e aumento dos níveis de colina (um marcador de disrupção da membrana celular) com consequente neuroinflamação (6). Como resultado final ocorre redução na síntese e aumento da degradação das membranas celulares, culminando num sinal de transmissão anormal (6). Alguns autores propuseram que a disbiose poderia ser responsável por desencadear todo o processo, já que os ácidos gordos de cadeia curta sintetizados pela flora comensal intestinal nessa situação ativam a microglia e alteraram a integridade da BHE (2,6).

O cérebro alberga uma grande quantidade de ácidos gordos que participam na regulação da neurotransmissão, sobrevivência celular e modulação da neuroinflamação (1,29). Os ácidos gordos da dieta estão envolvidos na produção de eicosanoides, uma classe de mensageiros químicos com influência nas respostas inflamatórias, por regulação genética, síntese de citocinas e alteração na composição e função das membranas (1). As alterações neurofisiológicas no hospedeiro podem surgir pela produção desses compostos químicos pela microbiota (10). Os ácidos gordos de cadeia curta, que surgem da fermentação das fibras e hidratos de carbono da dieta pelos microrganismos, são os principais produtos da fermentação anaeróbia (6,29). São produzidos a nível intestinal e atravessam a BHE, alterando a excitabilidade neuronal e induzindo neuroinflamação, aumento do stress oxidativo e depleção de antioxidantes (10,18,29). O ácido acético, ácido propiónico e ácido butírico são os principais ácidos gordos de cadeia curta produzidos pela microbiota (29).

O nervo vago constitui outra das vias através das quais os ácidos gordos de cadeia curta podem modificar a fisiologia cerebral. As fibras aferentes do nervo vago são capazes de reconhecer ácidos gordos de cadeia curta produzidos e libertados pela microbiota, sendo que a ativação nervosa e consequente resposta depende do composto bacteriano produzido (31).

Os ácidos gordos de cadeia curta são também inibidores da histona deacetilase, envolvida em mecanismos epigenéticos (24). Além disso, o ácido propiónico e ácido butírico modulam a neurotransmissão (24). Por exemplo, o ácido propiónico aumenta a expressão da hidroxilase do triptofano, pelo que a microbiota pode modular a produção de serotonina através dos ácidos gordos de cadeia curta (24). De notar que níveis excessivos de ácido propiónico têm efeito neurotóxico e associam-se a alterações cognitivas e de socialização (24). Como referido acima, os ácidos gordos de cadeia curta parecem ainda ter efeito sobre a microglia, sendo o ácido propiónico um ativador (24). Contudo, o papel dos ácidos gordos sobre a homeostasia da microglia depende do seu tipo e concentração (24).

A passagem dos ácidos gordos de cadeia curta através da BHE acontece pela estimulação do TNF, que além de contribuir para aumentar a sua permeabilidade, tem capacidade para a atravessar e, por si só, ativar a microglia (6). As bactérias da ordem *Clostridiales* e género *Prevotella* são conhecidas pela capacidade de produzirem ácidos gordos de cadeia curta e *Lactobacillus ruminis* é uma espécie bacteriana que estimula a produção de TNF (6), pelo que a presença destas no trato gastrointestinal constitui, possivelmente, um fator de risco para Esquizofrenia. Indivíduos com risco altamente elevado da doença também apresentam na sua microbiota aumento das ordens *Clostridiales*, *Lactobacillales* e *Bacteroidales*, que aumentam a produção de ácidos gordos de cadeia curta, que por sua vez se associam a elevados níveis de colina no córtex cingulado anterior (6). A redução da espécie *Blautia* e dos géneros *Coprococcus* e *Roseburia* na microbiota intestinal parece associar-se a redução dos níveis de ácidos gordos de cadeia curta (22), pelo que a redução do número dessas bactérias poderá constituir um fator protetor em relação ao desenvolvimento de Esquizofrenia.

As bactérias comensais têm também capacidade para aumentar a permeabilidade gastrointestinal, pelo que a Hipótese de Membrana poderá igualmente explicar o mecanismo de translocação bacteriana (4,6,34). A barreira gastrointestinal é uma estrutura com múltiplas camadas (29). A primeira camada corresponde a uma barreira física superficial – a mucosa intestinal – e a segunda corresponde a uma camada funcional mais profunda, onde se encontram microrganismos (patogénicos ou comensais) e onde ocorre a resposta imunitária contra esses agentes (29). Uma barreira gastrointestinal saudável depende da composição da microbiota, das células imunitárias, células epiteliais intestinais e suas junções, assim como de péptidos antimicrobianos (29). A disrupção

desta barreira altera a permeabilidade intestinal, permitindo a passagem de microrganismos e substâncias por eles produzidas, assim como passagem de moléculas potencialmente nocivas para a corrente sanguínea (29). Esta disrupção parece estar presente na Esquizofrenia, já que os níveis de marcadores de translocação bacteriana encontram-se elevados em fase aguda e crónica da doença (22,29).

O anticorpo contra o fungo comensal *Saccharomyces cerevisiae* constitui um marcador de translocação microbiana (3,34). Este encontra-se elevado aquando do primeiro episódio psicótico e os seus níveis são superiores em doentes que nunca receberam tratamento (3,4). Também os anticorpos contra CD14 solúvel (sCD14) e proteína de ligação aos lipopolisacáridos (LBP) constituem marcadores serológicos de translocação bacteriana (3,34). Severance et al. (2013) detetaram elevados níveis de sCD14 em doentes com Esquizofrenia (34). A translocação das bactérias comensais através da barreira gastrointestinal pode culminar num estado persistente de inflamação/ativação imunitária sistémica (34), que como veremos resultará em neuroinflamação, a qual está presente na Esquizofrenia.

Os microrganismos comensais mantêm a integridade da barreira epitelial intestinal por uma variedade de mecanismos, como diminuição da resposta inflamatória a esse nível, expressão de péptidos antimicrobianos, produção de muco e reparação de danos teciduais (34). Foram detetadas funções específicas de algumas bactérias na manutenção da integridade: *Bacteroides thetaiotaomicron* e algumas espécies de *Lactobacillus* promovem as junções celulares, *Bacteroides fragilis* ajuda a corrigir a permeabilidade intestinal, *Bifidobacterium infantis* secreta fatores bioativos para fortalecer a função de barreira (34). A presença destas espécies a nível intestinal parece, por isso, ser benéfica. Outro exemplo, diz respeito ao filo *Firmicutes*, já que este tem capacidade para produzir butirato, um produto derivado da fermentação bacteriana, com origem no ácido butírico (23). O butirato tem como função manter a integridade da barreira epitelial intestinal, de tal forma que a redução da sua produção poderá facilitar a translocação intestinal de antígenos bacterianos, os quais parecem alterar a função da BHE, por ativação de mecanismos locais e sistémicos (23). Assim, a presença de *Firmicutes* a nível da microbiota intestinal parece constituir um fator protetor indireto para Esquizofrenia. Também o aumento do género *Collinsella* ao nível da microbiota parece associar-se a alteração da permeabilidade da barreira intestinal (22), aumentando o risco de doença.

6.3. Hipótese Inflamatória

A evidência mostra que os doentes com Esquizofrenia apresentam inflamação intestinal (8,34). Nestas situações, os produtos bioativos produzidos pela flora comensal podem escapar através do trato gastrointestinal e produzir uma resposta inflamatória sistêmica, com posterior entrada no SNC, devido à rutura da barreira gastrointestinal e BHE (8). De facto, as bactérias comensais intestinais têm potencial para controlar a resposta neuroinflamatória, frequentemente alterada na Esquizofrenia (24). Assim que a barreira gastrointestinal fica comprometida, pela ocorrência de inflamação a esse nível, ocorre translocação dos produtos bacterianos para a circulação sistêmica, com início de um estado de inflamação sistêmica perpetuada, de baixo grau (34). Como vimos anteriormente, a Hipótese de Membrana é consistente com este fenómeno, já que os marcadores de translocação bacteriana estão alterados na Esquizofrenia (34).

A inflamação sistêmica aumenta a permeabilidade da BHE, favorecendo a passagem de componentes do sistema imunitário através das regiões permeáveis que se estabelecem, ou através das estruturas circunventriculares sem BHE, ligação a recetores específicos ou pelos vasos linfáticos dos seios durais (5,35). As citocinas que circulam a nível periférico têm assim capacidade para modular a microglia e neurónios do SNC (5). Em resposta à inflamação sistêmica, inicia-se um estado de neuroinflamação, por ativação das células da microglia, as quais libertam citocinas que se ligam a recetores neuronais específicos, afetando a neurotransmissão, neurogénese e plasticidade sinápticas, e consequentemente a cognição e o comportamento (5,35). As citocinas pro-inflamatórias desempenham um papel pleiotrópico no SNC, dependendo dos sinais complexos do microambiente, com influência na neurotransmissão e neurogénese, pelo que a microglia pode exercer ação neuroprotetora ou neurotóxica (8,36). A regulação da microbiota sobre a resposta neuroinflamatória pode também ser mediada pelos ácidos gordos de cadeia curta, já que níveis neurotóxicos de ácido propiónico aumentam a ativação da microglia (24). Um aumento dos ácidos gordos de cadeia curta no intestino em função da dieta, medicação ou infeções leva ao aumento dos metabolitos microbianos no SNC, os quais podem afetar a ativação da microglia (24).

Percebeu-se que durante os episódios de agudização da Esquizofrenia, os doentes apresentam ativação da microglia ao nível da substância cinzenta em geral e do hipocampo (37). A neuroinflamação daí resultante contribui para a perda progressiva de substância cinzenta e deterioração cognitiva na doença (35). Outros autores referem que

a ativação imunitária crónica tem efeitos adversos sobre os circuitos corticais ao nível do córtex pré-frontal (38).

Os marcadores de inflamação estão presentes em indivíduos com elevado risco de psicose, mesmo antes de preencherem os critérios para doença mental (39). Estudos em ratos e seres humanos revelaram que a manipulação da microbiota afeta a concentração sérica de alguns desses marcadores, nomeadamente citocinas (35). Assim, a flora comensal intestinal afeta o SNC, por influência na resposta inflamatória (35).

6.3.1. A via das células Th17

Shaw et al. (2012) demonstraram que a flora comensal estimula os macrófagos intestinais a produzirem IL-1 β , a qual induz a diferenciação de células Th17 (40,41). As células Th17 são responsáveis pela produção de IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22 e GM-CSF e fisiologicamente têm um papel importante em processos de infeção, autoimunidade e inflamação, particularmente nas superfícies mucosas, pelo que a sua disfunção origina fenómenos de atopia, doenças inflamatórias e autoimunes (42). De todas essas citocinas, a IL-17 constitui uma citocina pro-inflamatória, que participa na fisiopatologia da Esquizofrenia (43), como veremos neste subcapítulo.

Os defeitos da barreira mucosa intestinal, com a alteração da permeabilidade intestinal e translocação das bactérias comensais e seus produtos, na Esquizofrenia, parecem ativar e modificar a sinalização dessas células (42,44). Como vimos, as células Th17 são fundamentais para manter a homeostasia intestinal, contudo na ocorrência de disbiose, estas estarão ativas de tal forma que se originará uma cascata inflamatória local, com posterior extensão ao SNC (29,42). Segundo Debnath et al. (2014), as células Th17 induzem disrupção da BHE e infiltram o SNC através das vénulas da BHE, por disrupção das *tight junctions* ou por ação direta da IL-17A nas células endoteliais (42). De facto, a distribuição dessa linhagem de células T no líquido de doentes com Esquizofrenia encontra-se alterada, o que constitui uma evidência indireta de alteração da permeabilidade da BHE e infiltração no SNC (42). El Kissi et al. (2014) concluíram que os doentes com Esquizofrenia apresentam níveis séricos aumentados de IL-17, os quais se correlacionam negativamente com o score SANS (36). Neste estudo participaram doentes com Esquizofrenia em fase aguda e que nunca fizeram tratamento, ou que tinham abandonado a terapêutica há pelo menos três meses (36). Noutra investigação, Dimitrov et al. (2013) verificaram uma redução significativa dos níveis séricos de IL-17 em doentes com Esquizofrenia, face a indivíduos saudáveis (45). Contudo, neste estudo não

se fez distinção entre doentes medicados, nem se se encontravam em fase aguda ou crónica da doença no momento da seleção dos participantes.

Apesar da atual evidência sobre o papel das citocinas das linhagens Th17 na Esquizofrenia, estes e outros estudos não são consistentes. A discordância entre os resultados das investigações poderá dever-se aos critérios utilizados pelos autores na seleção das amostras de participantes, nomeadamente, estadio da doença, amostra pequena, idade, sexo, tratamento com antipsicóticos, terapêuticas concomitantes, etc. (42,46).

As bactérias filamentosas segmentadas são bactérias Gram-positivo com capacidade para penetrar a camada mucosa e interagir com as células epiteliais intestinais e imunitárias (44,47). Segundo Ivanov et al. (2008), a diferenciação de células Th17 no intestino correlaciona-se com a presença de bactérias comensais do filo *Cytophaga-Flavobacter-Bacteroidetes*, do grupo das bactérias filamentosas segmentadas (48). Gaboriau-Routhiau et al. (2009) e Flannigan et al. (2017) também sugerem que as bactérias filamentosas segmentadas sejam um potente estímulo para a diferenciação de células Th17 no intestino, já que a colonização de ratos induz essa diferenciação (47,49). Além disso, verificou-se que a colonização de ratos com bactérias filamentosas segmentadas induzia a produção de células Th17 no SNC por estimulação da IL-17A, o que significa que essas bactérias afetam não só a inflamação local, como a neuroinflamação (41). Os autores ressaltam que provavelmente outras espécies bacterianas comensais partilharam a mesma propriedade, já que por exemplo, o aumento de *Collinsella* associa-se a maior produção de IL-17A, tendo este efeito direto sobre a barreira epitelial intestinal, por regular as *tight junctions* e expressão de recetores e enzimas (22,47,49).

A IL-22 limita a expansão das bactérias filamentosas segmentadas, já que atua no epitélio intestinal contribuindo para a função de barreira, ao induzir proliferação epitelial, produção de muco e secreção de péptidos antimicrobianos (47). Ratos com elevado número de bactérias filamentosas segmentadas apresentam aumento na expressão da IL-22 (44). Os autores sugerem que a atividade das células Th17 possivelmente também controla a expansão de outras espécies bacterianas comensais (47). A via da IL-23 também contribui para limitar a abundância de bactérias filamentosas segmentadas e regular a função de barreira em ratos adultos (44). A disfunção da barreira intestinal leva a disseminação sistémica dos produtos bacterianos,

a qual induz aumento dos níveis de IL-23 (44). Um facto que comprova este mecanismo é que o bloqueio da via de sinalização IL-23/IL-22 promove a expansão dessas bactérias (44).

Outros grupos de bactérias da microbiota intestinal com propensão para induzir células Th17 (por exemplo, *Bifidobacterium adolescentis* e *Escherichia coli*), aumentam o risco de doenças do neurodesenvolvimento na descendência de grávidas, em estudos com ratos (50). A IL-17A, nestas condições, parece induzir anomalias corticais e comportamentais em ratos (como menor socialização e comportamentos repetitivos), sendo a diferenciação dessas células dependente da flora bacteriana intestinal materna durante a gravidez (50).

As células Th17 interagem com as células residentes do SNC, como neurónios e microglia (42). Ao ativarem a microglia, levam à produção local de citocinas pro-inflamatórias, como IL-1 β , TNF- α e IL-6, que desempenham um papel importante na neuroinflamação (42). Concretamente, parece existir uma sobre-ativação da microglia na substância cinzenta temporo-límbica de doentes com Esquizofrenia (46). Com isto, são geradas espécies reativas de oxigénio (ERO) e consequente *stress* oxidativo (42). A geração de radicais livres a nível cerebral leva a redução da neurogénese, coincidindo com os achados fisiopatológicos da Esquizofrenia (46). A IL-6 é a citocina pro-inflamatória mais importante envolvida no aumento da atividade da microglia (8,35). Dependendo do microambiente do SNC pode desempenhar um efeito neuroprotetor ou neurotóxico, e habitualmente a sua sobre-expressão inibe a neurogénese do hipocampo (8). Níveis séricos elevados de IL-6 e PCR em doentes com Esquizofrenia correlacionam-se com a gravidade dos sintomas negativos e positivos, pior prognóstico e pior resposta à terapêutica antipsicótica (46). Os níveis séricos de IL-6 parecem especialmente aumentados em indivíduos com risco de psicose ou doentes psicóticos que nunca realizaram terapêutica para a doença (35,37,51).

A IL-1 β e TNF- α também estão elevadas a nível sérico em doentes com episódio psicótico agudo (35). Além do seu aumento sérico, Dimitrov et al. (2013) demonstraram existir uma correlação positiva entre os níveis de IL-1 β e IL-6 cerebrais e os *scores* PANSS (45). De facto, os seus níveis encontram-se aumentados no líquido de doentes com Esquizofrenia, contudo não se sabe se esse aumento constitui uma causa ou consequência da doença (37).

7. Terapêutica proposta para a Esquizofrenia com ação na microbiota

A terapêutica atualmente aprovada para o tratamento da Esquizofrenia (nomeadamente antipsicóticos de primeira e segunda geração) é ineficaz nos sintomas negativos e cognitivos da doença (7) e apresenta efeitos adversos importantes. Nesse sentido, começaram a explorar-se novos alvos terapêuticos, nomeadamente os que possibilitam atuar sobre a microbiota (7,15). Além disso, não está ainda disponível nenhum tratamento com capacidade para modificar a doença, concretamente para travar a progressão das alterações estruturais cerebrais, sendo estas preditivas de pior resposta aos antipsicóticos e *outcomes* no geral (7). Assim, aquilo que se pretende é a descoberta de novos tratamentos que melhorem a saúde mental, cognitiva e o bem-estar destes doentes (3).

7.1. Probióticos

Os probióticos são microrganismos vivos que, se administrados em quantidades adequadas, podem contribuir para a saúde e benefício do hospedeiro, quando se encontram no seu intestino (2,3,11,16). As bactérias que fazem parte das preparações comerciais disponíveis são as produtoras de ácido láctico, nomeadamente *Lactobacilli* (*casei*, *reuteri*, *fermentum*, *plantarum*, *paracasei*, *salivarius*, *rhamnosus*) e *Bifidobacteria* (*bifidum*, *infantis*, *longum*), sendo estas as mais seguras (2,16). Atualmente a principal utilização destes microrganismos acontece em situações de doença em que é necessário restaurar a homeostasia intestinal (29). Os probióticos podem também ser encontrados em alimentos, nomeadamente nas frutas e vegetais não cozinhados, e 35% destes parecem sobreviver às condições gástricas (16).

Designam-se de psicobióticos os organismos vivos que, quando ingeridos em quantidade adequada, produzem benefício para a saúde de doentes com doença psiquiátrica (2). Estes parecem, particularmente, promissores no tratamento de doenças psiquiátricas onde a permeabilidade intestinal está aumentada (16).

Os benefícios da utilização de probióticos podem advir da sua ação direta ou indireta sobre as populações bacterianas, ou sobre a sua atividade (12,24). Atuam essencialmente por três mecanismos: alterações taxonómicas na microbiota, melhoria da integridade da barreira gastrointestinal (com bloqueio da translocação bacteriana) e modulação imunológica (29,52). Um probiótico pode suprimir ou favorecer o crescimento de determinadas espécies bacterianas a nível intestinal, através da produção

de bacteriocinas, produtos da sua fermentação ou de enzimas que influenciam a disponibilidade de substratos necessários ao crescimento bacteriano (12,24). Por exemplo, a administração de *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus helveticus* aumenta os níveis de *Bacteroides* e *Firmicutes* intestinais (24), que como vimos parecem benéficos na Esquizofrenia, de acordo com alguns dos estudos aqui citados. Em relação à atuação sobre a barreira gastrointestinal, por exemplo, *Lactobacillus acidophilus* parece aumentar a expressão de ocludina, uma proteína que promove as *tigh junctions* entre células epiteliais, de tal forma que a redução da permeabilidade intestinal vai impedir o mecanismo de translocação bacteriana (12,24). Os probióticos são ainda capazes de estabilizar a barreira gastrointestinal por aumentarem a expressão de mucina, aumentarem a imunidade da mucosa (secreção de IgA) e por sintetizarem substâncias antioxidantes (16). A observação de que o tratamento com probióticos pode reduzir os níveis de inflamação constitui mais uma prova de que as alterações na microbiota modulam as respostas imunitárias (3). Nomeadamente, os probióticos estimulam a produção de células Treg (29).

Severance et al. (2016) reportaram melhoria nos sintomas positivos da Esquizofrenia em humanos após administração dos probióticos *Lactobacillus rhamnosus* e *Bifidobacterium animalis* (53). *Lactobacillus rhamnosus* parecem ter benefício também no controlo de sintomas de ansiedade e depressão, os quais podem fazer parte do quadro clínico da Esquizofrenia (29). Okubo et al. (2018) investigaram o efeito do consumo do probiótico *Bifidobacterium breve* A-1 nos sintomas de ansiedade e depressão em doentes com Esquizofrenia, explorando ainda o seu impacto ao nível da inflamação que acompanha a doença (54). Os doentes com resposta ao tratamento, nomeadamente redução de sintomas negativos, apresentavam inicialmente aumento da abundância relativa de *Parabacteroides* na microbiota intestinal, os quais se associaram a Depressão noutros estudos (54). Além disso, ocorreu um aumento da expressão de IL-22 nesse grupo de doentes, ao fim de quatro semanas (54). Concluindo, os resultados sugerem que a administração de *Bifidobacterium breve* A-1 parece melhorar os sintomas de ansiedade e depressão nos doentes esquizofrénicos (54). Esse efeito não parece resultar de uma alteração direta na composição da microbiota intestinal ou nos níveis de citocinas inflamatórias, mas sim de melhoria na função da barreira epitelial intestinal, na qual a IL-22 desempenha um papel fundamental (54).

Ratos com alterações comportamentais, com redução de *Lactobacillus* fecal e aumento dos níveis periféricos de quinurenina, aos quais foi dada suplementação com *Lactobacillus rhamnosus*, apresentavam melhoria das alterações metabólicas e comportamentais, melhoria da interação social (19). Além disso, *Lactobacillus helveticus* e *Bifidobacterium longum* mostraram melhorar esses mesmos sintomas, mas em voluntários saudáveis (16).

Num estudo realizado em mulheres saudáveis verificou-se que o consumo de probióticos associava-se a redução da conexão entre a amígdala e a ínsula, corpo estriado dorsal e córtex pré-frontal lateral (1). Este resultado revela que o consumo de probióticos associa-se a modulação de regiões cerebrais responsáveis por processar sinais aferentes provenientes de regiões envolvidas na resposta emocional (1).

Apesar dos resultados aqui apresentados, é necessária a realização de mais ensaios clínicos para fazer uma avaliação concreta da eficácia e benefício no tratamento da Esquizofrenia, dada a escassez de evidência (15).

Não pode deixar de ser notada uma contradição entre os resultados benéficos obtidos com o uso de probióticos e aquelas que são as bactérias que mais consistentemente surgem alteradas em doentes com Esquizofrenia, nomeadamente *Lactobacilli*. Várias investigações sugerem a presença aumentada deste género na microbiota de doentes com Esquizofrenia, face a indivíduos saudáveis. No entanto, têm surgido investigações com resultados que sugerem que a suplementação com probióticos nestes doentes poderá ser benéfica. Como se pode perceber, os microrganismos que constituem os probióticos, nomeadamente *Lactobacillus*, são equivalentes às bactérias que se encontram elevadas na microbiota, em situação de psicose. Esta contradição de resultados poderá ter por base algumas explicações. Primeiro, salvaguardar que a própria definição de probiótico refere que estes consistem em microrganismos vivos que em quantidades adequadas podem contribuir para a saúde e benefício do hospedeiro, mas habitualmente não colonizam o trato gastrointestinal como os *Lactobacilli* comensais (4). O conhecimento atual, aponta para que a sobrevivência dos probióticos a nível intestinal esteja dependente da continuidade da sua administração, já que estes não são detetados uma a quatro semanas após a paragem da sua ingestão, apesar de haver um aumento transitório das espécies nas fezes durante o período da suplementação (12). Além disso, as preparações comerciais de probióticos podem apresentar propriedades biológicas diferentes, face aos microrganismos comensais, o que poderá traduzir-se em diferente

impacto na saúde do hospedeiro, face às espécies naturais. Assim sendo, é possível especular que os mecanismos explicados acima possam ocorrer por um período limitado de tempo, e desempenhem um papel benéfico, sem que os microrganismos administrados fiquem a fazer parte da flora comensal intestinal. Por outro lado, muitas das investigações não especificam as espécies de *Lactobacillus* alteradas na doença, referindo apenas incremento do género na flora comensal intestinal nos doentes com Esquizofrenia. Dessa forma, possivelmente, existirão espécies benéficas e outras prejudiciais para a saúde do hospedeiro, dentro do mesmo género, podendo os *Lactobacilli* desempenhar um duplo papel, dependente também do microambiente local. Outro aspeto a ter em consideração prende-se com o facto de alguns dos estudos que testam a viabilidade dos probióticos serem efetuados em ratos, em vez de humanos, pelo que a sua ação poderá traduzir-se num diferente impacto para a saúde, com diferente desfecho. Por fim, a ação dessas bactérias poderá variar dependendo do estadió da doença, nomeadamente perante um episódio agudo ou doença crónica estabilizada.

Uma das preocupações na inclusão dos probióticos como terapêutica prende-se com a falta de conhecimento exato dos seus mecanismos de ação, especialmente em humanos (12,24). Além disso, o seu mecanismo de ação e eficácia poderão variar entre indivíduos, derivado das diferenças na composição da microbiota (24). O uso de probióticos não revelou efeitos adversos a curto e médio prazo, mas os seus efeitos a longo prazo são desconhecidos (16). Apesar disso, vários autores têm sugerido a sua aplicação nas doenças neuropsiquiátricas (24). A investigação futura deverá ter em conta o público alvo que beneficiará da suplementação com probióticos e sob que condições essa suplementação será vantajosa no tratamento e prevenção da Esquizofrenia (1). Atualmente estão a ser desenvolvidas novas técnicas laboratoriais para determinar espécies com potencial de probiótico, concretamente uma dessas técnicas permite, através da cultura bacteriana, identificar espécies da microbiota até então desconhecidas e testar a sua viabilidade em vários contextos (29). Esta técnica parece promissora na identificação de potenciais probióticos, possibilitando o conhecimento das suas características biológicas, capacidade de crescimento e interação com o hospedeiro, com vista à administração futura benéfica nas situações de disbiose (29).

7.2. Prebióticos

Os prebióticos consistem em hidratos de carbono não digeríveis (como galactooligosacáridos, frutooligosacáridos, insulinas e oligofrutose) que são fermentados

pela microflora intestinal e seletivamente estimulam o crescimento de probióticos intestinais como *Lactobacilli* e *Bifidobacteria* (2,16,24). São fermentados pela microbiota residente no cólon, alterando a sua composição e atividade (29). Atualmente a sua utilidade prende-se com restaurar a flora intestinal (3).

Os prebióticos, nomeadamente a oligofrutose, também parecem melhorar a homeostasia gastrointestinal ao reduzirem a permeabilidade intestinal e melhorarem a integridade das *tigh junctions* (24). Uma vez que na Esquizofrenia existe compromisso da função de barreira gastrointestinal, provavelmente há benefício na utilização de prebióticos em combinação com probióticos, mas o seu uso nessas circunstâncias não foi testado (16,24).

7.3. Transplante fecal de microbiota

O objetivo do transplante fecal é substituir ou repor a microbiota intestinal num indivíduo doente, fazendo a colheita num dador saudável (2,16). Atualmente a evidência sobre o assunto é escassa, com múltiplas questões por responder: o que define um “bom dador”, questões de segurança (nomeadamente risco de inocular microrganismos patogénicos no recetor) e efeitos a longo prazo (2,16). A única evidência da sua eficácia foi a utilização numa infeção por *Clostridium difficile*, mas parece ser uma intervenção com potencial a ser testada em doentes com Esquizofrenia (3). Existem estudos a decorrer com o objetivo de determinar os mecanismos de ação sobre a microbiota após transplante e os efeitos na resposta imunitária do hospedeiro (16). Contudo, é necessária uma melhor compreensão das questões inerentes ao microbioma na Esquizofrenia antes do transplante fecal ser uma opção de tratamento (26).

7.4. Outros potenciais alvos terapêuticos

Como vimos, a neuroinflamação crónica causa dano na função neuronal e alteração dos processos cognitivos (39). Posto isto, os tratamentos que atuem na microbiota com o objetivo de reduzir a inflamação sistémica e neuroinflamação, potencialmente levarão a redução dos sintomas e melhoria dos processos cognitivos (39). Apesar da inflamação ter sido abordada como uma consequência da disbiose, esta poderá constituir um alvo terapêutico complementar ao tratamento com ação na microbiota, já que existe benefício na modulação imunitária, especialmente nos estádios precoces da doença, no que respeita a gravidade dos sintomas e alterações cognitivas (55). Assim, o eixo IL-23/IL-17 poderá constituir um alvo terapêutico na Esquizofrenia, pela importância que assume na doença e pela influência que a microbiota exerce sobre ele,

mas não existem ainda estudos nesse sentido (41). Curiosamente, o bloqueio da IL-6 revelou-se importante para manter a integridade da mucosa intestinal (55), pelo que, além da sua ação sobre a microglia, esta citocina parece ter ação sobre a permeabilidade das membranas.

A evidência aponta para o facto dos antipsicóticos terem efeito anti-inflamatório (11). Antipsicóticos típicos (como o haloperidol e perazina) reduzem os níveis de citocinas pro-inflamatórias elevadas na Esquizofrenia (IL-1 β , IL-6, TNF- α) por influência da microbiota, enquanto antipsicóticos atípicos (como risperidona e clozapina) parecem elevar esses níveis (46). Dessa forma, o uso de antipsicóticos típicos terá maior benefício para os doentes com esse perfil de citocinas elevado.

A minociclina é uma tetraciclina de segunda geração que revelou propriedades anti-inflamatórias e neuroprotetoras (56). Ela inibe a apoptose por diminuir a produção de citocinas pro-inflamatórias (56). Parece ter um efeito direto nas células T ativadas, reduzindo a capacidade destas contactarem com a microglia, o que consequentemente diminui a produção de citocinas pro-inflamatórias (56). O seu bloqueio da sintase do óxido nítrico acaba por influenciar também a neurotransmissão do glutamato (56). A minociclina também atenua o aumento de dopamina no córtex frontal e corpo estriado, podendo corresponder a outro dos mecanismos de atuação do fármaco na Esquizofrenia (56). Estudos em animais mostraram que a minociclina é eficiente em prevenir ou atenuar sintomas psicóticos (56). Em humanos com Esquizofrenia catatónica, a administração de minociclina, juntamente com antipsicóticos, durante quatro semanas, melhorou significativamente o estado clínico, num estudo duplamente cego, randomizado e com controlo de placebo, efeito que se manteve nas quatro semanas seguintes (56). Posto isto, seria interessante produzir mais estudos que avaliem a eficácia da minociclina na doença (56).

O resveratrol é um flavonoide que demonstrou ter impacto na flora comensal intestinal, concretamente altera a sua composição, pelo que poderá ser outra opção terapêutica a ser testada na Esquizofrenia (57).

8. Discussão e Conclusão

A evidência aqui apresentada apoia a hipótese de que a disbiose desempenha um papel ativo na fisiopatologia da Esquizofrenia. A disfunção da microbiota parece,

inclusive, influenciar os mecanismos explicativos da doença já conhecidos, em especial a alteração na neurotransmissão dopaminérgica e glutaminérgica, modificação da permeabilidade das membranas e estado pró-inflamatório.

Com esta revisão pode inferir-se que alguns dos mais bem estabelecidos fatores de risco para Esquizofrenia, nomeadamente o meio urbano e malnutrição materna (54), poderão ter a disbiose como base subjacente. Assim, a modificação anormal da flora intestinal bacteriana poderá constituir um dos mecanismos explicativos para a contribuição destes fatores de risco para a fisiopatologia da doença, aliados a outros fatores identificados.

Os mecanismos fisiopatológicos inerentes à disbiose aqui apresentados parecem contribuir quer para o desenvolvimento da Esquizofrenia, quer para a gravidade da doença. Contudo, a hipótese aqui discutida deve ser, provavelmente, integrada num modelo multifatorial, para a qual poderão contribuir inúmeros fatores de risco, entre eles a disbiose.

Apesar do desenvolvimento deste tema e da crescente evidência do seu papel no desenvolvimento das doenças psiquiátricas, estabelecer uma relação direta entre a flora intestinal e uma determinada doença psiquiátrica é algo complexo, já que mesmo que esta exista, pode não ser específica (26). Da mesma forma, torna-se difícil estabelecer uma associação direta entre um determinado perfil microbiano e a Esquizofrenia, já que os resultados dos estudos são inconsistentes.

Os estudos atuais apresentam algumas limitações, que impossibilitam tirar conclusões seguras. Primeiramente, a informação sobre a microbiota diz maioritariamente respeito a composição relativa e não abundância absoluta, o que significa que a interpretação de aumento e diminuição de determinadas espécies pode induzir falsas conclusões. Não obstante, subsiste um problema de replicabilidade dos estudos que avaliam as diferenças na microbiota dos doentes com Esquizofrenia, já que existem diferenças técnicas nos métodos de avaliação utilizados. Outro dos problemas na avaliação da composição da microbiota intestinal deve-se à inexistência de uma referência de base da microbiota na comunidade. Assiste-se, por isso, a uma necessidade crescente de desenvolver investigações que possam captar a variabilidade inter-individual.

Atualmente a maioria dos estudos utiliza amostras pequenas, pelo que será necessário em futuras investigações envolver amostras populacionais maiores, para que

os resultados possam ser mais fidedignos e representativos. Investigações futuras deverão também fazer uma melhor caracterização demográfica, ter atenção a variáveis como nível educacional, estatuto económico, gravidade da doença, idade de aparecimento, duração, número de hospitalizações e tratamento com antipsicóticos. Seria também de interesse caracterizar os sintomas psicóticos dos participantes, sintomas cognitivos, funcionamento global, comorbilidades e estilo de vida (dieta, IMC, medicação, tabagismo, abuso de substâncias, sedentarismo e atividade física) podendo os últimos funcionar como variáveis confundentes (3).

Em relação às limitações na concretização deste trabalho, destaca-se o facto de a maioria das investigações resultar de estudos em animais, podendo as conclusões diferir quando se passa à sua aplicação em humanos. Além disso, esta revisão é apenas narrativa, e não sistemática, pelo que não foram incluídas todas as investigações existentes sobre o tema até à data e não foi feita uma revisão sobre a qualidade dos estudos. Contudo, para minimizar o impacto desses pontos, procurou-se excluir investigações consideradas de menor qualidade, nomeadamente, com amostras populacionais inferiores a 20 indivíduos, artigos de opinião ou estudos de caso.

Apesar das suas limitações, este trabalho vem demonstrar também a necessidade de investigação na área do tratamento direcionado à microbiota. Neste contexto, seria importante o desenvolvimento de novos fármacos com ação nos mecanismos fisiopatológicos da Esquizofrenia que sofrem a influência da microbiota, além de ensaios clínicos que testem a eficácia das alternativas terapêuticas mais estudadas até à data: probióticos, prebióticos e transplantes fecais. Concretamente, sobre os probióticos, a contradição entre o seu benefício na Esquizofrenia e o aumento de *Lactobacilli* na microbiota intestinal dos doentes esquizofrénicos documentado em alguns estudos, torna imperioso o desenvolvimento de mais ensaios clínicos que testem o seu verdadeiro efeito na doença.

Seria igualmente importante perceber a composição da microbiota após uma intervenção terapêutica ou avaliação experimental (por exemplo, suplementação com probióticos), por forma a determinar as diferenças induzidas, e durante diferentes fases da doença (nomeadamente fases sintomáticas e de remissão).

Em conclusão, apesar de ser uma área ainda em crescimento, com pouca informação concreta e viabilidade para aplicação na prática clínica, tem potencial

interesse para desenvolvimento em futuras investigações, não só na Esquizofrenia e Psiquiatria em geral, mas noutras áreas da Medicina.

Agradecimentos

Antes de mais, um especial agradecimento à pessoa que me orientou e tornou possível a concretização do trabalho, a Dra. Filipa Novais, pela sua disponibilidade total e ajuda. Queria agradecer à minha mãe, Ana Rodrigues, pelo apoio incondicional; ao meu pai, Guilherme Capela, pela ajuda na escolha do tema do trabalho e constante interesse no seu desenvolvimento; ao meu namorado, Jorge Miguel Ramos, pelo apoio e paciência ao longo dos últimos meses. Por fim, um especial agradecimento ao meu irmão, restante família e amigos.

Bibliografia

1. Rieder R, Wisniewski PJ, Alderman BL, Campbell SC. Microbes and mental health: A review. 2017;66:9–17. Available from: https://ac-els-cdn-com.ezproxyd.bham.ac.uk/S0889159117300168/1-s2.0-S0889159117300168-main.pdf?_tid=1bf7ce68-ec8a-11e7-96d2-00000aab0f6c&acdnat=1514546546_88e23935d98c4618cfaa5b16e497dd17
2. Burokas A, Moloney RD, Dinan TG, Cryan JF. Chapter One – Microbiota Regulation of the Mammalian Gut–Brain Axis. *Adv Appl Microbiol.* 2015;91:1–62.
3. Nguyen TT, Kosciolk T, Eyler LT, Knight R, Jeste D V. Overview and systematic review of studies of microbiome in schizophrenia and bipolar disorder. *J Psychiatr Res* [Internet]. 2018;99(January):50–61. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2018.01.013>
4. Schwarz E, Maukonen J, Hyytiäinen T, Kieseppä T, Orešič M, Sabunciyan S, et al. Analysis of microbiota in first episode psychosis identifies preliminary associations with symptom severity and treatment response. *Schizophr Res.* 2018;192:398–403.
5. Kelly JR, Minuto C, Cryan JF, Clarke G, Dinan TG. Cross talk: The microbiota and neurodevelopmental disorders. *Front Neurosci.* 2017;11(SEP):1–31.
6. He Y, Kosciolk T, Tang J, Zhou Y, Li Z, Ma X, et al. Gut microbiome and magnetic resonance spectroscopy study of subjects at ultra-high risk for psychosis may support the membrane hypothesis. *Eur Psychiatry* [Internet]. 2018;53:37–45. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2018.05.011>
7. Breier A, Liffick E, Hummer TA, Vohs JL, Yang Z, Mehdiyou NF, et al. Effects of 12-month, double-blind N-acetyl cysteine on symptoms, cognition and brain morphology in early phase schizophrenia spectrum disorders. *Schizophr Res.* 2018;
8. Na K-S, Jung H-Y, Kim Y-K. The role of pro-inflammatory cytokines in the neuroinflammation and neurogenesis of schizophrenia. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry* [Internet]. 2014;48:277–86. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278584612002783>

9. Kelly DL, Demyanovich HK, Eaton WW, Cascella N, Jackson J, Fasano A, et al. Anti gliadin antibodies (AGA IgG) related to peripheral inflammation in schizophrenia. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2018;69:57–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.10.020>
10. Zhu X, Han Y, Du J, Liu R, Jin K, Yi W. Microbiota-gut-brain axis and the central nervous system. *Oncotarget* [Internet]. 2017;8(32):53829–38. Available from: www.impactjournals.com/oncotarget
11. Alam R, Abdolmaleky HM, Zhou JR. Microbiome, inflammation, epigenetic alterations, and mental diseases. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet*. 2017;174(6):651–60.
12. Nct. Impact of Probiotics on the Intestinal Microbiota. <https://clinicaltrials.gov/show/nct01609660> [Internet]. 2012;45(December):115–9. Available from: <http://cochranelibrary-wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/457/CN-01596457/frame.html>
13. O’Mahony SM, Clarke G, Borre YE, Dinan TG, Cryan JF. Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behav Brain Res* [Internet]. 2015;277:32–48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.027>
14. Slykerman RF, Thompson J, Waldie KE, Murphy R, Wall C, Mitchell EA. Antibiotics in the first year of life and subsequent neurocognitive outcomes. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2017;106(1):87–94.
15. Lv F, Chen S, Wang L, Jiang R, Tian H, Li J, et al. The role of microbiota in the pathogenesis of schizophrenia and major depressive disorder and the possibility of targeting microbiota as a treatment option. *Oncotarget* [Internet]. 2017;8(59):100899–907. Available from: <http://www.oncotarget.com/fulltext/21284>
16. Fond G, Boukouaci W, Chevalier G, Regnault A, Eberl G, Hamdani N, et al. The “psychomicrobiotic”: Targeting microbiota in major psychiatric disorders: A systematic review. *Pathol Biol* [Internet]. 2015;63(1):35–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.patbio.2014.10.003>
17. Hoban AE, Stilling RM, Ryan FJ, Shanahan F, Dinan TG, Claesson MJ, et al. Regulation of prefrontal cortex myelination by the microbiota. *Transl Psychiatry*

- [Internet]. 2016;6(4):e774-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/tp.2016.42>
18. Ong IM, Gonzalez JG, McIlwain SJ, Sawin EA, Schoen AJ, Adluru N, et al. Gut microbiome populations are associated with structure-specific changes in white matter architecture. *Transl Psychiatry*. 2018;8(1).
 19. Doherty FD, O'Mahony SM, Peterson VL, O'Sullivan O, Crispie F, Cotter PD, et al. Post-weaning social isolation of rats leads to long-term disruption of the gut microbiota-immune-brain axis. *Brain Behav Immun*. 2017;
 20. Stilling RM, Moloney GM, Ryan FJ, Hoban AE, Bastiaanssen TFS, Shanahan F, et al. Social interaction-induced activation of RNA splicing in the amygdala of microbiome-deficient mice. 2018;1–21.
 21. Thion MS, Low D, Silvin A, Chen J, Grisel P, Schulte-Schrepping J, et al. Microbiome Influences Prenatal and Adult Microglia in a Sex-Specific Manner. *Cell*. 2018;172(3):500–516.e16.
 22. Shen Y, Xu J, Li Z, Huang Y, Yuan Y, Wang J, et al. Analysis of gut microbiota diversity and auxiliary diagnosis as a biomarker in patients with schizophrenia: A cross-sectional study. *Schizophr Res*. 2018;1–8.
 23. Bruce-Keller AJ, Fernandez-Kim SO, Townsend RL, Kruger C, Carmouche R, Newman S, et al. Maternal obese-Type gut microbiota differentially impact cognition, anxiety and compulsive behavior in male and female offspring in mice. *PLoS One* [Internet]. 2017;12(4):1–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0175577>
 24. Sherwin E, Sandhu K V, Dinan TG, Cryan JF. May the Force Be With You : The Light and Dark Sides of the Microbiota – Gut – Brain Axis in Neuropsychiatry. *CNS Drugs*. 2016;30(11):1019–41.
 25. Köhler O, Petersen L, Mors O, Mortensen PB, Yolken RH, Gasse C, et al. Infections and exposure to anti-infective agents and the risk of severe mental disorders: a nationwide study. *Acta Psychiatr Scand*. 2017;135(2):97–105.
 26. Nemani K, Hosseini Ghomi R, McCormick B, Fan X. Schizophrenia and the gut-brain axis. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry* [Internet]. 2015;56:155–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.08.018>

27. Nguyen TT, Kosciolk T, Maldonado Y, Daly RE, Martin AS, McDonald D, et al. Differences in gut microbiome composition between persons with chronic schizophrenia and healthy comparison subjects. *Schizophr Res* [Internet]. 2018;(xxxx). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.schres.2018.09.014>
28. Figueira ML, Sampaio D, Afonso P. *Manual de Psiquiatria Clínica*. 1ª edição. Lisboa: Lidel; 2014.
29. Rodrigues-Amorim D, Rivera-Baltanás T, Regueiro B, Spuch C, de las Heras ME, Vázquez-Noguerol Méndez R, et al. The role of the gut microbiota in schizophrenia: current and future perspectives. *World J Biol Psychiatry* [Internet]. 2018;0(0):1–49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29383983> <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15622975.2018.1433878>
30. Dinan TG, Cryan JF. Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration. *J Physiol*. 2017;595(2):489–503.
31. Bonaz B, Bazin T, Pellissier S. The Vagus Nerve at the Interface of the Microbiota-Gut-Brain Axis. 2018;12(February):1–9.
32. O.O. O, D. F, I. G, A.M. H, B. K, M. F, et al. Increased kynurenine levels in schizophrenia patients with high anti-gliadin immunoglobulin G antibodies. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2013;73(9):282S. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L71149319> <http://ad4mh3sr7v.search.serialssolutions.com?sid=EMBASE&issn=00063223&id=doi:&atitle=Increased+kynurenine+levels+in+schizophrenia+patients+with+high+anti-gliadin+immunog>
33. das Graças Corsi-Zuelli FM, Brognara F, da Silva Quirino GF, Hiroki CH, Fais RS, Del-Ben CM, et al. Neuroimmune interactions in schizophrenia: Focus on vagus nerve stimulation and activation of the alpha-7 nicotinic acetylcholine receptor. *Front Immunol*. 2017;8(MAY):1–11.
34. Severance EG, Gressitt KL, Stallings CR, Origoni AE, Khushalani S, Leweke FM, Dickerson FB YR. Discordant patterns of bacterial translocation markers and implications for innate immune imbalances in schizophrenia. 2009;6(0):247–53.
35. Khandaker GM. Inflammation and immunity in schizophrenia : implications for

- pathophysiology and treatment. *Lancet Psychiatry*. 2015;2(3):258–70.
36. El Kissi Y, Samoud S, Mtiraoui A, Letaief L, Hannachi N, Ayachi M, et al. Increased Interleukin-17 and decreased BAFF serum levels in drug-free acute schizophrenia. *Psychiatry Res*. 2015;225(1–2):58–63.
 37. Khandaker GM, Dantzer R. Is there a role for immune-to-brain communication in schizophrenia? *Psychopharmacology (Berl)*. 2016;233(9):1559–73.
 38. Volk DW. Role of microglia disturbances and immune-related marker abnormalities in cortical circuitry dysfunction in schizophrenia. *Neurobiol Dis* [Internet]. 2017;99:58–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2016.12.019>
 39. Severance EG, Prandovszky E, Castiglione J, Yolken RH, Hopkins J. Gastroenterology issues in schizophrenia: why the gut matters. 2016;17(5):1–16.
 40. Shaw MH, Kamada N, Kim Y-G, Núñez G. Microbiota-induced IL-1 β , but not IL-6, is critical for the development of steady-state T_H 17 cells in the intestine. *J Exp Med* [Internet]. 2012;209(2):251–8. Available from: <http://www.jem.org/lookup/doi/10.1084/jem.20111703>
 41. Debnath M, Berk M. Functional Implications of the IL-23/IL-17 Immune Axis in Schizophrenia. *Mol Neurobiol* [Internet]. 2017;54(10):8170–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-016-0309-1>
 42. Debnath M, Berk M. Th17 pathway-mediated immunopathogenesis of schizophrenia: Mechanisms and implications. *Schizophr Bull*. 2014;40(6):1412–21.
 43. Saito K, Pignon P, Ayyoub M, Valmori D. Modulation of cytokine secretion allows CD4 T cells secreting IL-10 and IL-17 to simultaneously participate in maintaining tolerance and immunity. *PLoS One* [Internet]. 2015;10(12):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0145788>
 44. Shih VF-S, Cox J, Kljavin NM, Dengler HS, Reichelt M, Kumar P, et al. Homeostatic IL-23 receptor signaling limits Th17 response through IL-22-mediated containment of commensal microbiota. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2014;111(38):13942–7. Available from:

<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1323852111>

45. Dimitrov DH, Lee S, Yantis J, Valdez C, Paredes RM, Braida N, et al. Differential correlations between inflammatory cytokines and psychopathology in veterans with schizophrenia: Potential role for IL-17 pathway. *Schizophr Res* [Internet]. 2013;151(1–3):29–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2013.10.019>
46. Petrikis P, Voulgari P V., Tzallas AT, Archimandriti DT, Skapinakis P, Mavreas V. Cytokine profile in drug-naïve, first episode patients with psychosis. *J Psychosom Res*. 2015;79(4):324–7.
47. Flannigan KL, Ngo VL, Geem D, Harusato A, Hirota SA, Parkos CA, et al. IL-17A-mediated neutrophil recruitment limits expansion of segmented filamentous bacteria. *Mucosal Immunol*. 2017;10(3):673–84.
48. Ivanov II, Frutos R de L, Manel N, Yoshinaga K, Rifkin DB, Sartor RB, et al. Specific Microbiota Direct the Differentiation of IL-17-Producing T-Helper Cells in the Mucosa of the Small Intestine. *Cell Host Microbe*. 2008;4(4):337–49.
49. Gaboriau-Routhiau V, Rakotobe S, Lécuyer E, Mulder I, Lan A, Bridonneau C, et al. The Key Role of Segmented Filamentous Bacteria in the Coordinated Maturation of Gut Helper T Cell Responses. *Immunity*. 2009;31(4):677–89.
50. Huh J. Maternal gut bacteria promote neurodevelopment abnormalities in mouse offspring. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2018;83(9 Supplement 1):S85. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emexb&NEWS=N&AN=621902620>
51. Zeni-Graiff M, Rizzo LB, Mansur RB, Maurya PK, Sethi S, Cunha GR, et al. Peripheral immuno-inflammatory abnormalities in ultra-high risk of developing psychosis. *Schizophr Res* [Internet]. 2016;176(2–3):191–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2016.06.031>
52. Şimşek Ş, Yıldırım V, Çim A, Kaya S. Serum IL-4 and IL-10 Levels Correlate with the Symptoms of the Drug-Naive Adolescents with First Episode, Early Onset Schizophrenia. *J Child Adolesc Psychopharmacol* [Internet]. 2016;26(8):721–6. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/10.1089/cap.2015.0220>

53. Severance EG, Gressitt KL, Stallings CR, Katsafanas E, Schweinfurth LA, Savage CLG, et al. Probiotic normalization of *Candida albicans* in schizophrenia: A randomized, placebo-controlled, longitudinal pilot study. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2017;62:41–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2016.11.019>
54. Okubo R, Koga M, Katsumata N, Odamaki T, Matsuyama S, Oka M, et al. Effect of *Bifidobacterium breve* A-1 on anxiety and depressive symptoms in schizophrenia: A proof-of-concept study. *J Affect Disord* [Internet]. 2019;245(September 2018):377–85. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032718313600?dgcid=rs_s_sd_all
55. Borovcanin MM, Jovanovic I, Radosavljevic G, Pantic J, Janicijevic SM, Arsenijevic N, et al. Interleukin-6 in schizophrenia-Is there a therapeutic relevance? *Front Psychiatry*. 2017;8(NOV):1–10.
56. Arolt V, Ambrée O. The question of pro-inflammatory immune activity in schizophrenia and the potential importance of anti-inflammatory drugs. *Inflamm Psychiatry*. 2013;28:100–16.
57. Diaz-Gerevini GT, Repossi G, Dain A, Tarres MC, Das UN, Eynard AR. Beneficial action of resveratrol: How and why? *Nutrition*. 2016;32(2):174–8.